

-&gt; O CIT AB

1. 59-88042, May 21, 1984, PURIFIED BLOOD PLASMA AND ARTIFICIAL MILK FOR ANIMAL CONTAINING THE SAME; SHIROU WATANABE, A23C 11/00; A23K 1/16; A23K 1/18  
28 AUG 1998 15:19:07 U.S. Patent & Trademark Office P0007

59-88042

L3: 1 of 1

## ABSTRACT:

**PURPOSE:** A purified blood derived from pig blood, obtained by treating a blood plasma separated from a pig blood with an ultrafiltration membrane for a given molecular weight range, and removing a salt, low-molecular weight protein, etc., capable of exhibiting an antimicrobial activity and an antibody value against pathogenic coliform bacilli, effective for preventing diseases caused by coliform bacilli of newborn animals.

**CONSTITUTION:** A fresh blood collected from a pig body by the direct blood collecting method while avoiding the contact with air is rapidly cooled to a temperature at which the multiplication of microorganisms will not occur, e.g. about 4 approx. 5 degrees C. The resultant cooled blood is then centrifuged at 1 to req. 5,000 r.p.m. rotational frequency to give a supernatant fraction, which is then ultrafiltered through a filtration membrane for  
28 AUG 1998 15:19:08 U.S. Patent & Trademark Office P0008

59-88042

L3: 1 of 1

6,000 approx. 13,000 fractionated molecular weight while being kept at a low temperature to purify the blood plasma component. Preferably, the removal ratio of foreign materials in the purification treatment is about 70 approx. 90%. The resultant purified concentrated liquid is then dried into powder by the freeze-drying method, etc. and give the aimed purified blood plasma containing albumin and total globulin in (40 approx. 50):(50 approx. 60) ratio between the albumin and the total globulin in the whole protein. An antibiotic substance "Colistin" is added to the purified blood plasma and used together to give an artificial milk for animals.

Application Information

JP 82-196842 (JP57196842 Showa) 19821111

Publication Source

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN, Unexamined Applications, Section: C, Sect.  
No. 241, Vol. 8, No. 1931, P. 145 (19840905)  
International Patent Classification

ICM (3) A23C011-00

International Patent Classification, Secondary

// (3) A23K001-16; (3) A23K001-18

Abstract

**PURPOSE:** A purified blood derived from pig blood, obtained by treating a blood plasma separated from a pig blood with an ultrafiltration membrane for a given molecular weight range, and removing a salt, low-molecular weight protein, etc., capable of exhibiting an antimicrobial activity and an antibody value against pathogenic coliform bacilli, effective for preventing diseases caused by coliform bacilli of newborn animals.

**CONSTITUTION:** A fresh blood collected from a pig body by the direct blood collecting method while avoiding the contact with air is rapidly cooled to a temperature at which the multiplication of microorganisms will not occur, e.g. about 4-5°C. The resultant cooled blood is then centrifuged at 10,000 r.p.m. rotational frequency to give a supernatant fraction, which is then ultrafiltered through a filtration membrane for 6,000-13,000

fractionated molecular weight while being kept at a low temperature to purify the blood plasma component. Preferably, the removal ratio of foreign materials in the purification treatment is about 70-90%. The resultant purified concentrated liquid is then dried into powder by the freeze-drying method,

etc. and give the aimed purified blood plasma containing albumin and total globulin in (40-50):(50-60) ratio between the albumin and the total globulin

in the whole protein. An antibiotic substance "Colistin" is added to the purified blood plasma and used together to give an artificial milk for animals.

Accession Number

09 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—88042

⑪ Int. Cl.<sup>3</sup>

A 23 C 11/00

A 23 K 1/16

1/18

識別記号

庁内整理番号

6760—4B

7803—2B

7803—2B

⑬ 公開 昭和59年(1984)5月21日

発明の数 2

審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑭ 精製血漿およびそれを含有させた動物用人工乳

東京都千代田区有楽町1丁目1番2号旭化成工業株式会社内

⑮ 出 願 人 旭化成工業株式会社

大阪市北区堂島浜1丁目2番6号

⑯ 特 願 昭57—196842

⑰ 出 願 昭57(1982)11月11日

⑱ 発 明 者 渡辺史朗

⑲ 代 理 人 弁理士 清水猛

明 細 書

1 発明の名称

精製血漿およびそれを含有させた動物用人工乳

2 特許請求の範囲

(1) 豚血液より分離した血漿を分画分子量 6,000 ~ 13,000 の限外伊過膜により処理し、塩類、低分子量蛋白質および糖類等を除去して得られる高分子蛋白質を主成分とする精製された血漿。

(2) 精製された血漿が大腸菌に対し 4,000 以上の濃度で抗菌作用を示すものである特許請求の範囲第 1 項記載の血漿。

(3) 精製された血漿が豚もしくは牛由来の病原性大腸菌のうち 2 種以上の大腸菌に対して抗体価を示すものである特許請求の範囲第 1 項記載の血漿。

(4) 豚血液より分離した血漿を分画分子量 6,000 ~ 13,000 の限外伊過膜により処理し、塩類、低分子量蛋白質および糖類等を除去して得られる高分子蛋白質を主成分とする精製された血漿を単独または抗生物質コリスチンと併用添加してなる動物用人工乳。

物用人工乳。

3 発明の詳細な説明

本発明は、精製された血漿に関するもので、その目的とするところは、病原性大腸菌に対して抗菌力ならびに抗体を示し、新生動物の大腸菌症の防止に有効な豚血液由来の精製血漿を提供するにある。さらには、これを添加加工した人工乳を提供するにある。

一般に、新生動物においては、たとえば子豚は生後 2 ~ 3 週令頃通常の環境において病原菌の感染を受けやすく、その結果、下痢が多発することが知られている。下痢の原因菌としては、特に病原性大腸菌であることが知られていて、従来は下痢（遅発性大腸菌症および早発性大腸菌症）の治療に対してサルファ剤や抗生物質が使用されていたが、早発性大腸菌症では、症状が発現してから治療方法が皆無であり、遅発性大腸菌症では、症状が現われてからアナフィラキシー性下痢に移行するため、薬剤による治療が不充分であつた。

これらの問題を解決するため、抗体を人工的に

子豚に与えることが試みられている。しかし、かかる抗体製品は、馬、牛、豚、山羊、羊などの健康な家畜動物に各種病原体を大量に接種して、充分な抗体力価が得られるようになってから採血し、血清または免疫グロブリンを抽出して得られるもので、そのため多額の経費を要したり、多量に使用することには制限があつた。また、抗体製品として、牛の初乳の乾燥粉末が新生子豚の下痢症に有効であることも知られているが、原料の初乳が大量に供給されないという問題があつた。

本発明者は、従来のような家畜動物の血液および牛の初乳から、特殊な抗体または $\gamma$ -グロブリンを得る方法とは異なる効率的な方法を研究した結果、新生子豚の下痢の原因菌に有効な精製血漿とその製法を見出し、ここに本発明を完成した。すなわち、豚の新鮮な血液を原料とし、空気接触を回避しつつ、低温の条件下で血漿成分を採取し、透析法にて低分子成分を除去して得られる濃縮液を緩やかな条件にて乾燥して粉末状血漿を得たが、かかる製品は、大腸菌に対し優れた抗菌力を示し、

- 3 -

することが必要である。従来は、血液が冷却されないため、汚染菌の増殖により腐敗したり、蛋白質等の変性現象が生じ使用不能となることから、血液の冷却は重要である。

次に、冷却した血液は、回転数 5,000 rpm 以下で遠心分離して上清成分を得るが、必要に応じて血液の凝固を防止する目的でクエン酸塩を適量添加したり、または析出するフィブリン等の不溶物を適宜除去して透明な液を得る。

このようにして得た上清液は、低温に保持しつつ、分子量 6,000 ~ 15,000 の伊過膜を使用した限外伊過法により、血漿成分の精製を行なうことが必要である。かかる工程において除去される異物としては、無機塩、低分子量蛋白質、糖類があり、これらの異物は、最終製品の純度を下げのみでなく、乾燥工程において悪影響を及ぼし、均質な乾燥製品が得られなかつたり、抗菌力の低い製品となることから、異物の除去は重要である。

異物の除去に用いる伊過膜は、チューブ型または平膜型でもよいが、分子量 6,000 未満では

さらに豚または牛由来の病原性大腸菌に対する抗体価を示すことを見出した。また、本製品は通常グラム陰性細菌に有効な抗生物質として知られるコリスチンとの共存のもとに、強い大腸菌生育抑制作用を発揮する現象も認め、したがって、本製品およびコリスチンの併用は、各々単独で使用する場合の有効濃度よりも低濃度で使用できる利点を見出した。

本発明の方法をさらに詳しく説明すると、まず精製血漿を得るための原料である血液は、家畜の血類に限定されず、一般に屠場に大量に入手可能な血液、たとえば豚由来の血液が用いられる。しかし、従来の血液は、空気接触が避けられず、細菌や他成分等の混入もあり、新鮮な血液を採取することが非常に困難であつた。そこで、本発明においては、動物体内から空気接触を回避した直接採血法を採用し、これによつて得られる新鮮な血液を用いるものである。

次に、かかる血液を微生物の増殖が起きない温度以下（たとえば 4 ~ 5 °C 程度）に速やかに冷却

- 4 -

異物の除去が充分でなく、分子量 15,000 を超える場合は伊過性が低下して操作が困難となるため適当でない。異物の除去率は、増殖濃度の減少を指標として、大体 70 ~ 90 % が好ましい。

以上のごとき限外伊過処理によつて、同時に濃縮が可能であり、アルブミンおよび各種グロブリン（ $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -グロブリンなど）を主成分とする高分子蛋白質の濃縮液が得られる。かかる濃縮液の固型分濃度は約 15 ~ 20 % に達する。

次に、得られた濃縮液を凍結乾燥法か、もしくは苛酷条件を課けた噴霧乾燥法にて乾燥粉末化する。製品の総蛋白質中、アルブミンが 40 ~ 50 に対し、全グロブリンが 50 ~ 60 の割合で含まれる精製血漿が得られる。

以下、本発明の実施例を挙げて説明する。

#### 実施例 1

一般飼育の成豚 50 頭から採取した新鮮血液約 150 L を約 4 °C まで冷却しつつ、クエン酸ナトリウムを 0.2 ~ 0.5 % 添加した。次に、回転数 5,000 rpm の条件で遠心分離して上清液を集めた。

- 6 -

得られた上清液を、分画分子量6,000の限外通過膜を用い、無機塩、糖類および低分子量蛋白質を透析除去した後、液體約30%まで濃縮し、濃縮液中の固形分は約19%であつた。かかる濃縮液を送風温度130℃、排出口温度70~75℃の条件で噴霧乾燥して、本発明の精製血漿5.15gを得た。

得られた製品につき、大腸菌 (E. coli 0111 Stoke) に対する抗菌作用を調べた。また同時に比較対照として、市販の豚血液由来の血清乾燥粉末についても大腸菌に対する抗菌作用を測定した。その結果を第1表に示す。

測定条件：肉汁液体培地に、各乾燥粉末を水に溶解した無菌溶液を所定量添加して、大腸菌を接種後、37℃、1夜培養した。

第1表 大腸菌 (E. coli 0111 Stoke) の生育度

種類 \ 添加濃度 (ppm)	0	500	1000	2000	4000	10,000
本発明品 (精製血漿)	*	*	+	±	-	-
市販品 (乾燥血清)	*	*	*	*	*	+

(注) \* : 生育良好 - : 生育せず

このように、本発明品は、市販品よりも強力な抗菌力をもつ精製血漿であることが認められる。

次に、本発明品と市販の血清乾燥品について、各種の病原性大腸菌抗体を測定した。その結果、第2表に示すとおり、本精製血漿は豚および牛由来の大腸菌抗原の2種以上に有効であることがわかる。

測定方法：各粉末を生理食塩水にて5%濃度に溶解した液を作成し、各大腸菌の死菌との凝集反応により、陽性は+、陰性は-と表示した。

- 7 -

第2表 乾燥粉末の抗体検定

E. coli 抗原	0-6	0-22	0-101	0-148	0-149
本発明品 (精製血漿)	+	+	+	+	+
市販品 (乾燥血清)	+	-	-	-	-

(注) ■豚由来病原性大腸菌、■牛由来病原性大腸菌

さらに、本発明における精製血漿は、抗生物質コリスチンと併用するとき、大腸菌に対する抗菌力が相対的に増すことが次の第3表から認められる。

測定条件：肉汁液体培地に、各添加物を水に溶解し除菌した溶液を所定量添加して、大腸菌を接種後、37℃、1夜培養した。

第3表 大腸菌 (E. coli 0111 Stoke) に対する本精製血漿とコリスチンの抗菌作用

コリスチン (ppm)	0	0.18	0.36	0.75	1.50
精製血漿 (ppm)	0	500	1,000	2,000	4,000
0	*	*	*	*	-
500	*	*	-	-	-
1,000	+	-	-	-	-
2,000	±	-	-	-	-
4,000	-	-	-	-	-

(注) \* : 生育良好、- : 生育せず

このことから、精製血漿およびコリスチンが共存する時、各々単独に添加した時の有効濃度よりも非常に低い濃度において大腸菌の生育を抑制することが可能である。

#### 実施例2

実施例1において得られた精製血漿5部、子豚用人工乳95部 (主成分：粗蛋白質22.0部、粗脂肪3.0部、粗繊維2.0部、粗灰分3.5部、カルシウム0.7部、リン0.6部) を混合したところの精製血漿5%添加人工乳、および実施例1におい

て得られた精製血漿3部、子豚用人工乳97部  
(主成分: 上記の同じ)、ならびに抗生物質コリスチンが20ppmとなるように混合して、精製血漿3部-コリスチン20ppm添加人工乳を調製した。

次に、これら精製血漿添加人工乳を病原性大腸菌感染動物に給餌して、感染菌に対する効果を調べた。

試験方法としては、LWH種の6日令豚を用い、試験開始当日に健康状態が良好で、かつ体重が1.35~2.40kgの子豚を選び、各区の体重分布がほぼ等しくなるように各群4頭ずつ区分けし、2群は精製血漿添加試験区および精製血漿とコリスチンの併用添加試験区、他の群は精製血漿を添加しない対照試験区として実施した。

一方、実験動物への病原性大腸菌の感染は、給餌開始24時間に各区へ1頭あたり $1.5 \times 10^8$ 個の *Escherichia coli* (O-101, K-99) を経口投与して行なつた。飼育期間中は、毎日各子豚の糞便の性状を観察し、体重は試験開始時と7日後に測定した。さらに病原性大腸菌の経口感染後、

7日目の直腸内容物中の *Escherichia coli* (O-101, K-99) 数を検査することによつて、本精製血漿の病原性大腸菌に対する効果を判定した。試験結果は第4表のとおりである。

なお、表中の記載事項についての説明は以下のとおりである。

$$(1) \text{体重増加率} = \frac{\text{試験終了時の平均体重} - \text{試験開始時の平均体重}}{\text{試験開始時の平均体重}} \times 100$$

$$(2) \text{体重増加率比} = \frac{\text{試験区の体重増加率}}{\text{対照試験区の体重増加率}}$$

(3) 感染菌検出率: 人工的経口感染7日目の直腸内容物より分離された大腸菌コロニー100個中に占める感染菌 *E. coli* (O-101, K-99) の割合で、大腸菌のO-群、K-群標準抗血清と検出菌との細胞凝集反応を行なわせて判定した。

- 1 1 -

- 1 2 -

第 4 表

		体 重 の 状 況			感染菌検出率 (平均) %
		試験の体 重平均 開始時 (kg)	体 重 増 加 率 (%)	体 重 増 加 比	
試 験 区	精製血漿 5部添加区	1.91	13.9	1.07	検出されない
	精製血漿3部添加 コリスチン20ppm 添加区	1.88	16.0	1.09	検出されない
対 照 区	無添加区	1.90	6.0	1.00	6.67

上記の成績から明らかなように、本発明にかか  
る精製血漿は、病原性大腸菌に対して有効であり、  
コリスチンとの併用においても効果が認められる。

代理人 清水



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**